

© Коллектив авторов, 2016

*В.И. Ашкинази, М.Ю. Лебедев, Е.И. Крестова, Э.Н. Федулова,
Н.Ю. Широкова, О.А. Тутина*

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРОВ ЛЕЙКОЦИТМОДУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА

ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» МЗ РФ, г. Нижний Новгород, РФ

Цель исследования: оценить диагностическое значение лейкоцитмодулирующей активности сыворотки (ЛМАС) крови у детей с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК) и взаимосвязь с некоторыми медиаторами воспаления, влияющими на ее величину. **Материалы и методы исследования:** обследованы 99 пациентов в возрасте 5–17 лет, в т.ч. 49 детей, страдающих язвенным колитом (ЯК) и 50 – болезнью Крона (БК). Содержание растворимых молекул адгезии (sPECAM, sP-selectin), уровень провоспалительных цитокинов (ФНО α , ИЛ1 β , ИЛ6), неоптерина, маннан-связывающего лектина, эластазы нейтрофилов оценивали с помощью иммуноферментного анализа. Кислородзависимый метаболизм нейтрофилов изучали с использованием хемилюминесцентных реакций. **Результаты:** наиболее высокие показатели ЛМАС крови у обследованных детей наблюдались в период обострения заболевания. Это согласовывалось с данными эндоскопии кишечника, где регистрировались выраженные воспалительные изменения. Установлена корреляционная зависимость между величиной ЛМАС крови и уровнем sP-selectin, неоптерина, маннан-связывающего лектина, ФНО α , ИЛ1 β , эластазы нейтрофилов, величиной спонтанной продукции кислородных радикалов. **Заключение:** показана взаимосвязь ЛМАС крови с периодом заболевания, что дает основания использовать данный показатель как маркер воспалительного процесса. Зарегистрированы факторы, вносящие свой вклад в ЛМАС крови у детей с ВЗК, что подтверждалось выявленными взаимосвязями с изученными медиаторами воспаления.

Ключевые слова: язвенный колит, болезнь Крона, флогогенный потенциал, медиаторы воспаления, дети, подростки.

Цит.: В.И. Ашкинази, М.Ю. Лебедев, Е.И. Крестова, Э.Н. Федулова, Н.Ю. Широкова, О.А. Тутина. Диагностическое значение факторов лейкоцитмодулирующей активности сыворотки крови у детей и подростков с воспалительными заболеваниями кишечника. Педиатрия. 2016; 95 (6): 44–49.

V.I Ashkinazi, M.Y. Lebedev, E.I. Krestova, E.N. Fedulova, N.Y. Shirokova, O.A. Tutina

DIAGNOSTIC VALUE OF LEUKOCYTE MODULATING SERUM ACTIVITY FACTORS IN CHILDREN WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASES

The Volga District Federal Medical Research Center, Nizhny Novgorod, Russia

Контактная информация:

Ашкинази Владимир Израильевич – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии и молекулярной диагностики ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» МЗ РФ
Адрес: Россия, 603155, г. Н. Новгород, Верхневолжская набережная, 18
Тел.: (831) 436-62-40, **E-mail:** vladash58@yandex.ru
Статья поступила 26.09.16, принята к печати 24.11.16.

Contact Information:

Ashkinazi Vladimir Izrailevich – Ph.D., senior researcher at the Laboratory of Clinical Immunology and Molecular Diagnostics, The Volga District Federal Medical Research Center
Address: Russia, 603155, Nizhny Novgorod, Verhnevolzhskaya Naberezhnaya, 18
Tel.: (831) 436-62-40, **E-mail:** vladash58@yandex.ru
Received on Sep. 26, 2016, submitted for publication on Nov. 24, 2016.

Objective of the research – to assess diagnostic value of leukocyte modulating serum activity factors in children with inflammatory bowel diseases (IBD) and their relationship with some inflammatory mediators that affect its value. The study included 99 patients aged 5–17 years, including 49 children with ulcerative colitis (UC), and 50 with Crohn's disease (CD). Content of soluble adhesion molecules (sPECAM, sP-selectin), level of pro- and anti-inflammatory cytokines, neopterin, neutrophil elastase were evaluated by ELISA. Oxygen-dependent metabolism of neutrophils was studied with chemiluminescent reactions. The highest rates of leukocyte modulating serum activity (LMSA) in examined children were observed during exacerbation period. It was consistent with bowel endoscopy data, where expressed inflammatory changes were recorded. The study revealed correlation between LMSA value and level of neopterin, sP-selectin, FNO α , IL1 β , IL4 (in patients with UC), TFR β 1, neutrophil elastase, level of oxygen radicals spontaneous production. It also proved interrelation LMSA with disease period, which gives reason to use this index as an inflammatory process marker. The study revealed factors contributing to LMSA in children with IBD, which was confirmed by identification of linkages to known inflammation mediators.

Keywords: ulcerative colitis, Crohn's disease, leukocyte modulating serum activity, inflammation mediators, children, adolescents.

Quote: V.I. Ashkinazi, M.Y. Lebedev, E.I. Krestova, E.N. Fedulova, N.Y. Shirokova, O.A. Tutina. Diagnostic value of leukocyte modulating serum activity factors in children with inflammatory bowel diseases. *Pediatrics*. 2016; 95 (6): 44–49

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), к которым относятся язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК), являются хроническими процессами, протекающими у генетически предрасположенных детей и взрослых на фоне дисбаланса врожденного и адаптивного иммунитета. Ведущую роль при ВЗК играют реакции Т-лимфоцитов, прежде всего CD4+Т-клеток (Т-хелперы, Th) – доминирующей субпопуляции воспалительного процесса, а также регуляторных Т-клеток (Treg), несущих противовоспалительную функцию. У пациентов с ЯК воспаление в целом развивается по Th2-пути, которое реализуется в виде повышенной продукции интерлейкинов (ИЛ) ИЛ4, ИЛ5, ИЛ13, растворимых молекул межклеточной адгезии и др. Определяющим типом иммунного ответа при БК считается Th1-опосредованный ответ, связанный с продукцией интерферона γ (ИФН γ), ИЛ1 β , ИЛ2, ИЛ6, ИЛ12, ИЛ18, фактора некроза опухоли α (ФНО α) и других факторов [1, 2]. Последними исследованиями показано, что у больных ВЗК слизистая оболочка (СО) массивно инфильтрирована еще одной категорией CD4+Т-хелперных лимфоцитов – Th17-клетками, продуцирующих провоспалительные цитокины ИЛ17A, ИЛ17F, ИЛ21, ИЛ23, ИЛ6, ФНО α [3–5].

Известно, что в развитии воспаления, кроме указанных Т-лимфоцитов, принимают участие другие клетки (фагоциты, тучные клетки, эозинофилы, тромбоциты, В-лимфоциты, фибробласты), а также продуцируемые ими факторы (медиаторы воспаления). Весь арсенал медиаторов – преформированных (т.е. возникающих на ранних этапах созревания клеток) и адаптивных, образующихся в клетках только при активации воспалительного процесса, составляют воспалительный «потенциал», который формируется не только локально, но и системно, обнаруживаясь и активно проявляя себя в сыворотке крови. При этом оценить вклад всех сывороточных факторов (цитокины, лейкотриены, эйкозаноиды, компоненты комплемента, факторы свертывания и фибринолиза, острофа-

зовые белки, эндогенные антимикробные пептиды и белки, активные формы кислорода и др.) в общую воспалительную реакцию весьма непросто, поскольку в исследуемом субстрате может быть повышена активность одних компонентов и снижена – других. К тому же определение всех этих факторов по отдельности не под силу даже самой современной лаборатории. В связи с этим для интегративной (комплексной) оценки воспалительного процесса в кишечнике целесообразно использовать определение лейкоцитмодулирующей активности сыворотки крови (ЛМАС) [6]. Предлагаемый подход позволяет зарегистрировать все основные события, которые развиваются в организме при воспалении.

В качестве индикаторов воспаления при этом используются фагоциты (в первую очередь нейтрофилы) здоровых доноров, которые наиболее существенно меняют свою функциональную активность *in vitro* под влиянием всей совокупности факторов, находящихся в сыворотке крови, что позволяет суммировать разнонаправленные эффекты отдельных медиаторов и оценить общий доминирующий вектор развития воспалительного процесса [7]. Эффективность подобного исследования для общей оценки воспаления была продемонстрирована при различных патологиях: остром коронарном синдроме [8], одонтодонных флегмонах челюстно-лицевой области [9], при микст-инфекции клещевого энцефалита и иксодового клещевого боррелиоза [10], муковисцидозе [11].

Цель исследования: оценить диагностическое значение ЛМАС крови у детей с ЯК и БК и взаимосвязь с некоторыми медиаторами воспаления, влияющими на ее величину.

Материалы и методы исследования

Обследованы 99 пациентов в возрасте 5–17 лет с ВЗК, в т.ч. 49 детей, страдающих ЯК, и 50 – БК. У детей с ЯК на основании педиатрического индекса активности ЯК – PUCAI (Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index) в 30 случаях отмечалось обострение заболевания, в 19 – кли-

ническая ремиссия. У 28 пациентов с БК согласно педиатрического индекса активности БК – PCDAI (Pediatric Crohn's Disease Activity Index) регистрировалось обострение заболевания, у 22 – клиническая ремиссия. Полученные результаты исследований сравнивали с аналогичными показателями 20 условно-здоровых детей того же возраста, которые составили контрольную группу.

Респираторный метаболизм нейтрофилов в спонтанном (с раствором Хенкса) и индуцированном (с использованием зимозана, опсонизированного пулом сывороток здоровых доноров) тестах исследовали в реакциях люминолзависимой хемилюминесценции [12] на хемилюминометре Luminoscan Ascent (Thermo Scientific, Швеция). Результаты выражали в относительных световых единицах (1 световая единица соответствует 1×10^4 импульсов (квантов)/с). На основе полученных результатов рассчитывали индекс стимуляции – отношение индуцированной реакции к спонтанной, который выражали в условных единицах.

ЛМАС крови изучали с помощью люминолзависимой хемилюминесценции с использованием лейкоцезви здоровых доноров. С этой целью утром натощак из локтевой вены доноров забирали 4–5 мл крови, стабилизировали гепарином (конечная концентрация в крови – 10 ед./мл) и разводили физиологическим раствором в соотношении 1:1. Затем в центрифужные пробирки последовательно вносили 4 мл разведенной крови и 1,75 мл 3,42% раствора декстрана Т-500 и выдерживали 90–120 мин при температуре 20 °С в штативе под углом 45°. Надсадок (лейкоцезвь) отбирали, дважды в течение 5 мин отмывали при 1500 об/мин и взвешивали в растворе Хенкса без фенолового красного в концентрации 1×10^6 клеток/мл. Лейкоцезвь в объеме 100 мкл вносили в лунки 96-луночного планшета, добавляли 100 мкл люминола (10-3М, «Sigma») и помещали инкубироваться (для стабилизации реакции) в режиме автоматического встряхивания на 15 мин (37 °С) в микропланшетный люминометр. Затем к реакционной смеси добавляли либо 50 мкл сыворотки больного (индуцированная реакция), либо 50 мкл раствора Хенкса (спонтанная реакция) и продолжали инкубацию в люминометре в течение 60 мин, при этом прибор автоматически производил измерения каждые 2 минуты. Под влиянием совокупности воспалительных факторов, содержащихся в сыворотке больного, лейкоциты доноров активируются и образуют в результате респираторного взрыва активные формы кислорода, которые окисляют люминофор (люминол) с выделением квантов света, что немедленно регистрируется прибором. Наиболее характерна такая реакция для нейтрофилов, все другие лейкоциты окисляют люминол многократно слабее. Чем выше воспалительная активность сыворотки, тем выше показатели хемилюминесценции в индуцированной пробе по сравнению со спонтанной и наоборот. По окончании исследования рассчитывали индекс стимуляции (отношение индуцированной реакции к спонтанной), который в дальнейшем мы расценивали как показатель ЛМАС крови [7, 8].

Уровень цитокинов ФНО α , ИЛ1 β , ИЛ6 исследовали с использованием тест-систем «Вектор-Бест»,

Россия. Содержание неоптерина определяли при помощи набора Neopterin ELISA (IBL, Германия). Концентрацию маннан-связывающего лектина с использованием тест-системы «Human MBL ELISA» («Hycult biotech», Нидерланды). Активность растворимых молекул адгезии – sP-selectin (soluble platelet selectin) и sPECAM-1 (soluble platelet-endothelial cell adhesion molecule 1) и эластазы полиморфнонуклеарных лейкоцитов оценивали с помощью наборов (Bender Medsystems, Австрия). Для оценки активности воспалительного процесса в кишечнике одновременно проводили эндоскопию с использованием видеоколоноскопа «PENTAX» (EC- 3830F) и морфометрию полученных биоптатов СО кишки с выделением клеток стромы и инфильтрата.

Обработку полученных данных выполняли с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Описательная статистика признака включала определение медианы (Me), первого и третьего квартилей (Q25–Q75). При проверке гипотез использовали тест Манна-Уитни и корреляционный анализ по Спирмену (R). Статистическими значимыми считали различия между показателями при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что наиболее высокие (статистически значимые) показатели ЛМАС крови у обследованных детей наблюдались в период обострения (табл. 1). Клинически у пациентов с ЯК это проявлялось в виде усиления болей в животе, учащения стула и появления в нем слизи, метеоризма, ухудшения показателей копрограммы, интоксикации, синдрома гемоколита, воспалительных изменений крови. Эндоскопически воспалительно-деструктивный процесс в толстой кишке у таких детей сопровождался гиперемией, отеком СО, отсутствием сосудистого рисунка. Регистрировались множественные микроабсцессы, поверхностные язвы неправильной формы, покрытые фибрином и контактная кровоточивость СО различной интенсивности.

У детей с БК отмечались болевой абдоминальный синдром, синдром гемоколита, повы-

Таблица 1

ЛМАС крови у наблюдаемых детей с ВЗК

Нозологические группы		ЛМАС, у.е. Me (Q25–Q75)
Контрольная группа	(n=20)	0,054 (0,02–0,21)
ЯК	Обострение (n=30)	0,44 ^{1, 2} (0,2–0,63)
	Клиническая ремиссия (n=19)	0,15 (0,07–0,28)
БК	Обострение (n=28)	0,63 ^{1, 2} (0,34–1,09)
	Клиническая ремиссия (n=22)	0,19 (0,08–0,27)

Здесь и в табл. 2–5: ¹статистически значимо относительно контрольной группы, ²статистически значимо относительно клинической ремиссии.

шенная температурная реакция организма, сдвиг «влево» в гемограмме. Воспалительный процесс в этот период по данным эндоскопии мог локализоваться практически в любом отделе желудочно-кишечного тракта, однако чаще всего отмечался в терминальном отделе подвздошной кишки и в прямой кишке. Наблюдалось сочетание измененной СО и неизменной, наличие афт, язв и свищей, глубоких продольных язв, деформирующих складок или гаустр. Кроме того, отмечались хронические, глубокие, безболезненные анальные трещины.

В период ремиссии (табл. 1) величина ЛМАС крови у детей с ВЗК стабилизировалась (снижалась) и значимо не отличалась от показателей здоровой группы. В большинстве случаев у пациентов отсутствовали вышеперечисленные клинические и эндоскопические признаки, характерные для воспаления. В частности, у пациентов с ЯК, по данным эндоскопии, исчезали гиперемия и отек СО, ее вид становился бледно-розовым, ровным, блестящим. Нормализовался сосудистый рисунок, отсутствовала контактная кровоточивость СО. Что касается больных БК, то у них отмечались лишь постязвенные рубцовые деформации СО кишки и псевдополипы, возникающие на месте язвенных дефектов. Результаты эндоскопии в этот период наглядно подтверждались морфометрическими исследованиями биоптатов СО кишечника, где отмечались слабовыраженные воспалительные изменения. Так, у пациентов с БК в собственной пластинке СО наблюдалась невысокая клеточная плотность инфильтрата с присутствием единичных эозинофилов и нейтрофилов на фоне снижения содержания клеток лимфоплазмочитарного ряда. Одновременно отмечался рост клеток структурообразующей функцией в виде зрелых фибробластов и фиброцитов.

У детей с ЯК в собственной пластинке СО также наблюдалась выраженная положительная динамика, заключающаяся в снижении выраженности и активности воспалительного процесса, с сохранением несколько повышенного количества эозинофильных гранулоцитов.

Следовательно, изучение величины ЛМАС крови позволяет дифференцировать период заболевания у детей с ЯК и БК.

В ходе исследования также была показана информативность определения ЛМАС крови для оценки эффективности лечения. На фоне проводимой терапии у пациентов с ВЗК в 87,5% случаев отмечалась положительная клиническая

динамика, которая выражалась в улучшении состояния больного, нормализации эндоскопической и морфологической картины СО толстой кишки и сопровождалась значимым снижением показателя ЛМАС (до начала лечения в общей группе – 0,54 (0,22–0,89) у.е., по окончании лечения – 0,18 (0,08–0,31) у.е., $p=0,0017$). В пользу сказанного также свидетельствовала корреляционная взаимосвязь между величиной ЛМАС и периодом заболевания ($R=0,32$; $p=0,0073$). Таким образом, определение ЛМАС крови больного ребенка с целью оценки развития воспалительного процесса позволяет, с нашей точки зрения, значительно сократить количество традиционно используемых лабораторных тестов.

Определяя факторы, способные внести свой вклад в ЛМАС крови у детей с ВЗК, мы опирались на собственные данные обследования больных БК и ЯК [13, 14], где было установлено повышенное содержание растворимых форм молекул клеточной адгезии sP-selectin и sPECAM-1 и выявлена их взаимосвязь с некоторыми маркерами воспаления (продукты респираторного метаболизма нейтрофилов, неоптерин, маннанысвязывающий лектин, провоспалительные цитокины). Основываясь на полученных результатах, нами проанализирована связь ЛМАС с активностью упомянутых индикаторов воспаления. В период обострения зарегистрирована корреляция с уровнем sP-selectin (табл. 2) – адгезивных молекул, обеспечивающих движение лейкоцитов вдоль эндотелия сосудов, при их миграции в очаг воспаления ($R=0,39$; $p=0,043$), величиной спонтанной продукции кислородных радикалов в реакции люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофилов (табл. 3). Являясь мощными окислителями, кислородные радикалы способны не только участвовать в воспалительных реакциях, обеспечивая на 85–90% биоцидный потенциал фагоцитов, но и, что очень важно, инициировать перекисное окисление липидов клеточных мембран, разрушать пептидные связи в белках, расщеплять нуклеиновые кислоты, декарбоксилировать аминокислоты, тем самым участвуя в уничтожении патогенов ($R=0,34$; $p=0,042$). Выявлена взаимосвязь показателя ЛМАС крови с концентрацией неоптерина (табл. 2) – чувствительного индикатора воспаления, уровень которого коррелирует с тяжестью и активностью заболевания и резко повышается при состояниях, связанных с активацией клеточного звена иммунитета (например, в случае затяжных бак-

Таблица 2

Содержание sP-selectin, sPECAM-1 и неоптерина в сыворотке крови у наблюдаемых детей с ВЗК

Показатели	sP-селектин, нг/мл			sPECAM-1, нг/мл			Неоптерин, нмоль/мл			
	Контрольная группа	БК	ЯК	Контрольная группа	БК	ЯК	Контрольная группа	БК	ЯК	
Медиана	95,05	377,01 ¹	242,45 ¹	49,7	88,85 ¹	91,1 ¹	6,28	10,22 ¹	8,7 ¹	
Квартили	25%	84,77	180,14	117,09	43,2	79,9	71,1	3,3	8,75	6,51
	75%	109,38	854,91	594,56	54,6	132,61	151,47	7,43	11,7	10,31

**Уровень спонтанной люминолзависимой хемилюминесценции
и индекс стимуляции нейтрофилов крови у наблюдаемых детей с ВЗК**

Показатели	Люминолзависимая хемилюминесценция					
	Спонтанная реакция, отн. свет. ед.			Индекс стимуляции, у. е.		
	Контрольная группа	БК	ЯК	Контрольная группа	БК	ЯК
Медиана	2,0	7 ¹	11 ¹	16,47	25,23	28,12
Квар-тили	25%	1,0	5	9	9,67	11,49
	75%	2,0	10,5	17	23,19	43,42

Таблица 4

**Содержание эластазы нейтрофилов и маннан-связывающего лектина в сыворотке крови
у наблюдаемых детей с ВЗК**

Показатели	Эластаза нейтрофилов, нг/мл			Маннан-связывающий лектин, нг/мл		
	Контрольная группа	БК	ЯК	Контрольная группа	БК	ЯК
Медиана	76,16	349,27 ¹	287,27 ¹	2,4	5,74 ¹	6,02 ¹
Квар-тили	25%	37,23	161,49	149,32	1,94	4,19
	75%	113,41	634,71	494,18	2,91	9,53

Таблица 5

Содержание ФНО α , ИЛ1 β , ИЛ6 в сыворотке крови у наблюдаемых детей с ВЗК

Показатели	ФНО α , пг/мл			ИЛ1 β , пг/мл			ИЛ6, пг/мл		
	Конт-рольная группа	БК	ЯК	Конт-рольная группа	БК	ЯК	Конт-рольная группа	БК	ЯК
Медиана	43,5	77,63 ¹	79 ¹	28,4	62,1 ¹	91,25 ¹	17	26,6	25,9
Квар-тили	25%	39,8	31,24	29,6	24,4	32	30,5	12,5	11,3
	75%	50	153,5	123,6	32	184,3	634,5	18,5	40,8

териальных инфекций [15] ($R=0,38$; $p=0,04$). Зарегистрирована корреляция ЛМАС крови с содержанием маннан-связывающего лектина (MBL) (табл. 4), играющего важную роль во врожденном иммунитете ($R=0,31$; $p=0,029$). Являясь острофазовым белком, MBL образуется в печени в ответ на «аварийную» ситуацию (инфекцию) по сигналу, подаваемому провоспалительными цитокинами. MBL распознает углеводный паттерн (остаток маннозы и фукозы) на поверхности патогенов бактериального и грибкового происхождения, а также некоторых простейших, тем самым облегчая их поглощение фагоцитами. Кроме того, связывание MBL с микроорганизмами приводит к активации лектинового пути системы комплемента [16].

Одновременно изучена взаимосвязь ЛМАС с концентрацией провоспалительных цитокинов (табл. 5), вносящих важнейший вклад в ЛМАС крови. Установлено, что в период обострения регистрируется корреляция с уровнем ФНО α и ИЛ1 β (соответственно: $R=0,33$; $p=0,042$; $R=0,30$; $p=0,039$) Этот факт подтверждается результатами собственных морфологических исследований, свидетельствующих о том, что при ВЗК в СО кишки наблюдается резкое повышение количества активированных лимфоцитов, макрофагов и нейтрофильных гранулоцитов, способных усиленно продуцировать цитокины. При этом важно иметь в виду, что одними из ключевых индукторов синтеза цитокинов (так же, как и

инициаторов респираторного метаболизма фагоцитов) служат компоненты клеточных стенок бактерий: липополисахариды, мурамилдипептиды и пептидогликаны, обильно заселяющие толстую кишку у пациентов с ЯК и БК [17, 18]. Это согласуется с современными представлениями о патогенезе ВЗК, согласно которым одной из главных причин развития ВЗК служат генетические дефекты, приводящие к тому, что иммунная система СО лишается толерантности к нормальной интестинальной микрофлоре, реагируя на нее чрезмерной активацией, ведущей к хроническому воспалению [19, 20].

Что касается активности ИЛ6, который секретируется в организме позже, чем ИЛ1 и ФНО α и потому относится к цитокинам, завершающим развитие воспаления, то в пределах нашей выборки его величина у больных детей в период обострения значимо не отличалась от показателей контрольной группы и не коррелировала с уровнем ЛМАС крови.

Отдельно следует отметить вклад в ЛМАС крови такого медиатора воспаления, как эластаза полиморфноядерных лейкоцитов (табл. 4), которая в настоящее время рассматривается как маркер острого и/или хронического воспаления различной этиологии. Являясь основной сериновой протеиназой человека, эластаза способна расщеплять (гидролизовать) широкий спектр белков, в т.ч. эластин, коллагены 3-го, 6-го, 8-го типов, протеогликаны, гистоны, основной белок миели-

на, гемоглобин, белки плазмы крови, которые в итоге теряют свои биологические свойства и тем самым способствуют развитию патологического процесса (в т.ч. и абсцессов). Кроме того, эластаза нейтрофилов не только повреждает ткани, но и активирует систему комплемента, которая в свою очередь также подключается к реализации воспаления [7]. Подтверждением сказанному служит установленная в ходе исследования связь показателя ЛМАС крови с уровнем данного фермента ($R=0,371$; $p=0,027$). Одновременно эластаза участвует в формировании растворимых мембранных антигенов посредством протеолитического отщепления с поверхности клеток внеклеточной части мембранных белков. Таким способом, в частности, образуется рассматриваемый нами sP-selectin, играющий важную роль в реализации воспалительных реакций, что подтверждается наличием корреляции между концентрацией sP-selectin и активностью протеиназы ($R=0,39$; $p=0,003$).

Заключение

У детей с ВЗК зарегистрирована корреляционная зависимость между величиной ЛМАС крови и уровнем неоптерина, sP-selectin, маннан-связывающего лектина, ФНО α , ИЛ1 β , эластазы нейтрофилов, величиной спонтанной про-

дукции кислородных радикалов – факторов, вносящих свой вклад в воспалительную активность сыворотки крови. Показана взаимосвязь ЛМАС крови с периодом заболевания, что дает основания использовать анализируемый показатель как маркер воспалительного процесса. Однако следует помнить, что ЛМАС отражает воспалительные явления, вызванные как основным заболеванием, так и сопутствующей патологией (холецистит, пиелонефрит, гастродуоденит и др.) и потому не может рассматриваться как специфический маркер. В этой связи хотелось бы отметить, что у 4 пациентов с клинически выраженным активным воспалительным процессом ЛМАС крови не отличалась от значений здоровых детей. Это могло быть связано с факторами, которые подавляют активность лейкоцитов (антиоксиданты, противовоспалительные цитокины, ингибиторы протеаз и комплемента и др.). Кроме того, у таких больных нельзя исключить развития гипореактивности клеток, продуцирующих медиаторы воспаления, вследствие применения медикаментозных средств (в т.ч. глюкокортикоидов, препаратов 5-аминосалициловой кислоты и др.).

Конфликт интересов: авторы сообщили об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Fina D, Pallone F. What is the role of cytokines and chemokines in IBD? *Inflammatory Bowel Disease*. 2008; 2: 117–119.
2. Sanchez-Munoz F, Dominguez-Lopez A, Yamamoto-Furusho JK. Role of cytokines in inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol*. 2008; 14 (27): 4280–4288.
3. Raza A, Yousaf W, Giannela R, Shata MT. Th17 cell: interaction with predisposing factor in the immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Expert. Rev. Clin. Immunol*. 2012; 8 (2): 161–168.
4. Monteleone L, Pallone F, Monteleone G. Th17-related cytokines new players in the control of chronic intestinal inflammation. *BMC Medicine*. 2011; 9: 122–129.
5. Конович Е.А., Халиф И.Л., Шапина М.В. Иммунопатогенез воспалительных заболеваний кишечника. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии*. 2013; 4: 69–78.
6. Маянский Д.Н., Царендоржиев Д.Д., Макарова О.П. Диагностическая ценность лейкоцитарных тестов. Определение биоцидности лейкоцитов: Методические рекомендации. Новосибирск, 1996: 19–22.
7. Маянский Д.Н. Лекции по клинической патологии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008: 79–95.
8. Маянский Д.Н., Маянская С.Д., Царендоржиев Д.Д., Мышкин А.В. Определение лейкоцитмодулирующей активности сыворотки крови при остром коронарном синдроме. Клиническая лабораторная диагностика. 1999; 7: 21–23.
9. Дурново Е.А., Ашкинази В.И., Высельцева Ю.В., Мишина Н.В., Хомутинникова Н.Е. Клинико-иммунологические особенности осложненного течения одонтогенных флегмон челюстно-лицевой области. *Стоматология*. 2010; 2: 29–31.
10. Поповникова Т.В., Бедарева Т.Ю., Вахрамеева Т.Н. Суммарная флогогенная активность сыворотки крови и ликвора при микст-инфекции клещевого энцефалита и иксодового клещевого боррелиоза у детей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2008; Приложение 1: 7–11.
11. Успенская И.Д., Жукова Е.А., Ерзутова М.В., Маянская И.В., Ашкинази В.И., Толкачева Н.И., Коркотавили Л.В., Колесов С.А. Флогогенный потенциал и метаболиты оксида азота у детей со смешанной формой муковисцидоза. *Педиатрия*. 2014; 93 (4): 17–23.
12. Маянский А.Н., Невмятуллин А.Л., Чеботарь И.В. Реактивная хемилюминесценция в системе фагоцитоза. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1987; 1: 109–115.
13. Ашкинази В.И., Маянская И.В., Толкачева Н.И., Федулова Э.Н., Широкова Н.Ю., Тутина О.А., Шумилова О.В. Молекулы адгезии при деструктивно-воспалительном процессе в кишечнике у детей с язвенным колитом. *Вопросы современной педиатрии*. 2013; 12 (4): 52–56.
14. Ашкинази В.И., Маянская И.В., Толкачева Н.И., Широкова Н.Ю., Федулова Э.Н., Васильева Е.А., Кропотов В.С., Тутина О.А., Шумилова О.В. Растворимые молекулы адгезии в патогенезе болезни Крона у детей. *Педиатрия*. 2014; 93 (6): 31–35.
15. Yadav AK, Sharma V, Jha V. Association between serum neopterin and inflammatory activation in chronic kidney disease. *Mediators Inflamm*. 2012; 476979. doi: 10.1155/2012/476979.
16. Worthley DL, Bardy PG, Mullighan CG. Mannose-binding lectin: biology and clinical implications. *Intern. Med*. 2005; 35 (9): 548–555.
17. Fava F, Danese S. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: friend of foe? *World J. Gastroenterol*. 2011; 17 (5): 557–567.
18. Loh G, Blaut M. Role of commensal gut bacteria in inflammatory bowel disease. *Gut Microbes*. 2012; 3 (6): 544–555.
19. Kaser A, Zeissig S, Blumberg RS. Inflammatory bowel disease. *Annu. Rev. Immunol*. 2010; 28: 573–621.
20. Henderson P, van Limbergen JE, Wilson DC. Genetics of childhood onset inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis*. 2011; 17 (1): 346–361.